



PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11) Publication number: **10155498 A**(43) Date of publication of application: **16 . 06 . 98**

(51) Int. Cl.

C12Q 1/02
C02F 1/00
C02F 3/00

(21) Application number: **08332924**(22) Date of filing: **28 . 11 . 96**(71) Applicant: **mitsui eng & shipbuild co
ltd aoki mitsuru**(72) Inventor: **AOKI MITSURU****(54) SIMPLE DIAGNOSIS OF BIOLOGICAL
TREATMENT OF SEWAGE****(57) Abstract:**

PROBLEM TO BE SOLVED: To diagnose the subject treating conditions without any isolation and culturing by biologically treating sewage with an aerobic sporulating bacterium, then collecting a sludge, diluting the collected sludge at different dilution rates and culturing the diluted sludges in a culture medium for a sample of many coexisting strains and a culture medium prepared by adding a nutrient source thereto.

SOLUTION: A sludge in a biological treatment system is collected and diluted at different dilution rates to provide a plurality of test specimens, which are then separately cultured in a culture medium A for a sample of many coexisting strains prepared by formulating a

nutrient source required by various microorganism groups participating in the biological treatment in the sludge and a culture medium B containing starch and a yeast extract added to the culture medium A when carrying out the biological treatment of the sewage by feeding the sewage to a reactional vessel containing an aerobic and sporulating bacterium placed therein, biologically treating components in the sewage and separating the treated solid sludge from a liquid. Whether a colony is formed in an early stage or not, the colony is of the bacterium belonging to the genus *Bacillus* or not and the sporulation is present or not is recognized to measure the bacterial density and further the incidence of a bacterium having the starch hydrolytic ability from the bacterium of the genus *Bacillus* from the culture medium B to thereby simply diagnose the quality of the biological treating conditions of the sewage.

COPYRIGHT: (C)1998,JPO

(51) Int.Cl. ⁸	識別記号	F I
C 1 2 Q 1/02		C 1 2 Q 1/02
C 0 2 F 1/00		C 0 2 F 1/00 V
3/00		3/00 Z

(21) 出願番号	(71) 出願人
特願平8-332924	000005902
(22) 出願日	三井造船株式会社
平成 8 年(1996) 11月28日	東京都中央区築地 5 丁目 6 番 4 号
	(71) 出願人
	594101178
	青木 満
	長野県伊那市西箕輪3900-618
	(72) 発明者
	青木 満
	長野県伊那市西箕輪3900-618
	(74) 代理人
	弁理士 丸山 英一

審査請求 未請求 請求項の数 4 F D (全 6 頁)

(54) 【発明の名称】 汚水の生物処理の簡易診断方法

(57) 【要約】

【課題】生物処理の指標細菌となるバチルス属細菌を簡易にかつ迅速に判断し、かつその栄養分解能等の判断も容易に行うことができ、処理場等における日常の施設管理に利用できる汚水の生物処理の簡易診断方法を提供すること。

【解決手段】本発明は、好気性で芽胞を形成する有用細菌を用いて汚水を生物処理する生物処理系内の汚泥をサンプリングし倍率を異ならせて希釈して作成した複数の被検試料を、該汚泥中の生物処理に関わる多種多様な微生物群が必要とする栄養源を配合してなる多菌種共存試料の検査に適した培地 A と、前記培地 A にでんぷん及び酵母エキスを加えた培地 B にて別々に培養し、汚泥中の有用細菌の単離培養を行うことなく汚水の生物処理状況の良否を判断すること特徴とする。

【特許請求の範囲】

【請求項1】好気性で芽胞を形成する有用細菌が棲息する反応槽に汚水を受け入れ、前記汚水中の成分を生物学的に処理する反応工程と、該反応工程から送られる汚泥を固液分離する固液分離工程を有する生物処理系によって汚水を生物処理する際に、前記生物処理系内の汚泥をサンプリングし、該汚泥を倍率を異ならせて希釈して、複数の被検試料を作成し、該複数の被検試料を、汚泥中の生物処理に関わる多種多様な微生物群が必要とする栄養源を配合してなる多菌種共存試料の検査に適した培地Aと前記培地Aにでんぶん及び酵母エキスを加えた培地Bにて別々に培養し、一方の培地Aから、早期にコロニーが形成されるか否かを視覚的に認定し、早期にコロニーが形成されている場合には、該コロニーが有用細菌であるバチルス属細菌のコロニーであるか否かを視覚的に認定することにより汚泥中の有用細菌であるバチルス属細菌の存在を判断し、該コロニーが該バチルス属細菌のコロニーである場合には、孢子を形成しているか否かを視覚的に認定し、次いで前記培地A上の該バチルス属細菌のコロニー数をカウントすることによりバチルス属細菌の密度を計測し、他方の培地Bから、培地B上に形成されたコロニーのうちバチルス属細菌のコロニーについて、でんぶん分解能を有する細菌の出現率を計測することにより、汚泥中の有用細菌の単離培養を行うことなく汚水の生物処理状況の良否を判断することを特徴とする汚水の生物処理の簡易診断方法。

【請求項2】前記培地Aが、少なくとも肉エキス、ペプトン、ぶどう糖及び食塩を含むことを特徴とする請求項1記載の汚水の生物処理の簡易診断方法。

【請求項3】前記汚水が下水又は尿であり、バチルス属細菌のコロニー数をカウントして密度を計測する際に、コロニー数をカウントした被検試料の希釈倍率 x と該カウント数 y が下記の式を満たすことを指標として汚水の生物処理状況の良否を簡易に判断することを特徴とする請求項1又は2記載の汚水の生物処理の診断方法。

$$[式] \quad y \times 10^{-2} \geq 10^4$$

【請求項4】でんぶん分解能を有する細菌の出現率が10%以上であることを指標として汚水の生物処理状況の良否を簡易に判断することを特徴とする請求項1、2又は3記載の汚水の生物処理の診断方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、生物処理の診断方法に関し、詳しくは、下水、し尿等の汚水の生物処理の簡易診断方法に関する。

【0002】

【従来の技術】下水、し尿等の汚水処理は、近年、微生物を利用する生物処理が行われている。これらの生物処理に関わる微生物は、多種多様であり、様々な特性・機能を有する微生物が混在しており、生物処理の対象によ

って優占化する菌種も異なる。現実の汚水処理場等では、これらの混在する微生物群を効率良く利用し、優れた処理を行うために、生物処理の状況を把握しなければならない。状況を適切に、迅速に把握し、例えば、処理が良好に進行していない場合には、適切な処置を行い、生物処理の悪化を防ぐことが必要である。

【0003】生物処理状況を把握するには、処理槽等に棲息する細菌から原生動物まで、多岐にわたる微生物群の質（特性）及び量（密度）についての測定を行うことが必要である。しかし、それぞれの特性にあった培地で培養し、単離・培養後に各種生理学的検査を行うことは、煩雑であり、実用的ではない。

【0004】従来、生物処理微生物群のなかでも、有機物の分解・質化の中心的役割を果たす細菌が、グラム陽性桿菌で、内生孢子形成能を有する有用細菌であり、この有機物の分解能力に優れた有用細菌が、反応槽内に10⁴個/ml以上存在することが優れた生物処理を行う上で望ましいことは知られている。

【0005】また、下水処理にバチルス属細菌が用いられることは特公平4-26834号にも記載されている。

【0006】従って、本発明者は、このバチルス属細菌を生物処理における重要な指標細菌として、バチルス属細菌の質（特性）及び量（密度）についての測定を行うことにより、生物処理の進行状況を把握することができると考えた。

【0007】しかし、生物処理に関するバチルス属細菌は、30種以上存在することが確認されており、各々のバチルス属細菌の分解能力を確認するには、まず被検試料を希釈し、平板培地に通常4～12日間培養させ、発芽・増殖させた後に、発生したコロニーごとに顕微鏡検査を行い、さらに単離・培養を経て、栄養ごとの分解機能検査を行っており、最終的な結果が判明するまでには、4～8週間もかかり、日々変化しているバチルス属細菌の現状を把握できず、日々の施設管理には適していないという問題があった。また、この方法は専門の知識と検査技術が必要とするものなので、専門職員を配置する必要がある、日常の施設管理として用いることはコスト的に難しい。

【0008】

【発明が解決しようとする課題】そこで、本発明は生物処理の指標細菌となるバチルス属細菌を簡易にかつ迅速に判断し、かつその栄養分解能等の判断も容易に行うことができ、処理場等における日常の施設管理に利用できる汚水の生物処理の簡易診断方法を提供することを課題とする。

【0009】

【課題を解決するための手段】上記課題を解決する本発明に係る汚水の生物処理の簡易診断方法は、好気性で芽胞を形成する有用細菌が棲息する反応槽に汚水を受け入れ、前記汚水中の成分を生物学的に処理する反応工程

と、該反応工程から送られる汚泥を固液分離する固液分離工程を有する生物処理系によって汚水を生物処理する際に、前記生物処理系内の汚泥をサンプリングし、該汚泥を倍率を異ならせて希釈して、複数の被検試料を作成し、該複数の被検試料を、汚泥中の生物処理に関わる多種多様な微生物群が必要とする栄養源を配合したなる多菌種共存試料の検査に適した培地Aと前記培地Aにでんぶん及び酵母エキスを加えた培地Bにて別々に培養し、一方の培地Aから、早期にコロニーが形成されるか否かを視覚的に認定し、早期にコロニーが形成されている場合には、該コロニーが有用細菌であるパチルス属細菌のコロニーであるか否かを視覚的に認定することにより汚泥中の有用細菌であるパチルス属細菌の存在を判断し、該コロニーが該パチルス属細菌のコロニーである場合には、胞子を形成しているか否かを視覚的に認定し、次いで前記培地A上の該パチルス属細菌のコロニー数をカウントすることによりパチルス属細菌の密度を計測し、他方の培地Bから、培地B上に形成されたコロニーのうちパチルス属細菌のコロニーについて、でんぶん分解能を有する細菌の出現率を計測することにより、汚泥中の有用細菌の単離培養を行うこととなる汚水の生物処理状況の良否を判断することと特徴とする。

【0010】好ましくは、前記培地Aが、少なくとも肉エキス、ペプトン、ぶどう糖及び食塩を含むことである。

【0011】また、前記汚水が下水又は尿であり、パチルス属細菌のコロニー数をカウントして密度を計測する際に、コロニー数をカウントした被検試料の希釈倍率 x と該カウント数 y が下記の式を満たすことを指標として汚水の生物処理状況の良否を簡易に判断することは好ましい。

$$[式] y \times 10^4 \geq 10^4$$

【0012】更に好ましくは、でんぶん分解能を有する細菌の出現率が10%以上であることである。

【0013】

【発明の実施の形態】本発明において、生物処理系とは、好気性で芽胞を形成する有用細菌が棲息する反応槽に、下水や尿等の汚水を受け入れ、汚水中の成分を生物学的に処理する反応工程と、反応工程から送られる汚泥を固液分離する固液分離工程を有する処理系を意味する。

【0014】これらの生物処理系における重要な指標細菌は、パチルス属細菌であるが、このパチルス属細菌は主に4種類の特性を有し、

- ①炭水化物のみを選択的に分解する種、
- ②蛋白質のみを選択的に分解する種、
- ③炭水化物・蛋白質のいずれをも分解する種、
- ④炭水化物・蛋白質のいずれをも分解しない種が認められている。

【0015】汚泥の生物処理において、栄養の種類によ

って異なるが、主に上記②の蛋白質のみを選択的に分解する種が優占し、次に多いのが①の炭水化物のみを選択的に分解する種である。尚、蛋白質を分解する種の大部分は脂質についても同様に分解（可溶性）する。パチルス属細菌は内生孢子形成性を有し、貧栄養状態などの悪環境時には、胞子化し、低pH、乾燥、低酸素、高低温度、圧力変化などに耐え得る。これとは逆に、富栄養状態などの好環境時には、再び発芽し、増殖する。また、その世代時間は14～45分であり、適環境下で優占化する。

【0016】更にパチルス属細菌の他の特性としては、その増殖や胞子化に際して、抗生物質を分泌したり、特殊な酵素を合成し、微塵蟻・蠅や蚊の増殖を抑制したり、また、腐敗菌の細胞壁（膜）を直接攻撃し、腐敗菌が増殖するのを防ぐ作用もある。

【0017】上述した生物処理に用いられるパチルス属細菌は、その特性、性状、機能、生物学的特徴により30種以上が分類・確認されている。この多種類のパチルス属細菌の中には、栄養に対する分解能力に差があり、本発明は、この栄養に対する分解能力の差を簡易にかつ迅速に判断できる。

【0018】以下に本発明の生物処理の簡易診断方法について詳細に説明する。

【0019】まず、生物処理系内の反応工程内あるいは固液分離工程内の汚泥をサンプリングする。サンプリングした汚泥は、倍率を異ならせて希釈する。希釈や培養に際しては、器材は全て滅菌処理を行ったものを用い、また操作は全て無菌的に行う。

【0020】汚泥の希釈用の水としては、滅菌処理を行った蒸留水を用いる。汚泥を均一になるようによく攪拌し、1mlを分取し、希釈水を加えて10mlにして10倍の希釈試料を作成する。次にこの10倍の希釈試料をよく攪拌し、1mlを分取し、希釈水を加えて10mlにして10²倍の希釈試料を作成する。順次これを繰り返して複数の被検試料を作成する。

【0021】次に、この被検試料を、以下に説明する汚泥中の生物処理に関わる多種多様な微生物群が必要とする栄養源を配合したなる多菌種共存試料の検査に適した培地Aと、培地Aにでんぶん及び酵母エキスを加えた培地Bを用いて培養する。

【0022】本発明に用いられる培地Aは、汚泥中の多種多様な微生物群、特に汚水の生物処理の有用細菌である30種を超えるパチルス属細菌を簡易に発芽させ、増殖させることができる培地である。即ち、培地Aは、上述した微生物群、特にパチルス属細菌が必要とする栄養源をバランス良く培地中に存在させているので、植菌後24～48時間で栄養分解が完了し、胞子を形成するに適した栄養濃度であり、生物処理に有益な全てのパチルス属細菌を発芽、増殖させることができる。

【0023】本発明は、上述の培地Aを用いて、希釈調

製を行った汚泥を培養することによって、汚泥中に存在する微生物群の状況を把握し、更に有効細菌であるパチルス属細菌の存在を確認することができる。

【0024】本発明に用いられる培地Bは、上記培地Aにでんぶん及び酵母エキスを加えた培地であり、上記培地Aと同様に、汚泥中の多種多様な微生物群、特に汚水の生物処理の有用細菌である30種を超えるパチルス属細菌を簡易に発芽させ、更に、パチルス属細菌の栄養分解能のうちででんぶん分解能を有する細菌の出現率が簡易に計測できる培地である。この培地Bによって汚泥中の有用細菌の栄養源別の分解能が簡易に推測できる。即ち、パチルス属細菌のなかでも優占化する種は主に蛋白質を選択的に分解する種であるか、もしくは主に炭水化物を選択的に分解する種であるので、炭水化物であるでんぶんを分解する種の出現率が計測できれば、その他の種は蛋白質を分解可能な種であると推測することができる。

【0025】上述した培地Aは、少なくとも肉エキス、ペプトン、ぶどう糖及び食塩を含むものであり、具体的には、ニュートリエントブロスが0.5～1.0%、ぶどう糖0.5～1.0%、食塩0.3～1.0%で構成することができる。好ましくは、ニュートリエントブロスが0.8%、ぶどう糖0.8%、食塩0.6%で構成されることである。この培地に寒天を1.5%加えて加熱（80℃）し、寒天を完全に溶解させ、20mlづつシャーレに分取し、シャーレに広げて冷却し、平板培地Aを作成する。

【0026】また、上述した培地Bは、上記培地Aにでんぶん及び酵母エキスを加え調整するが、具体的には、*

* 上記培地Aに、でんぶん0.3～1.5%及び酵母エキス0.03～0.1%を加えることができる。好ましくは、ニュートリエントブロスが0.8%、ぶどう糖0.8%、食塩0.6%、でんぶん0.5%、酵母エキス0.05%で構成されることである。この培地に寒天を1.5%加えて加熱（80℃）し、寒天を完全に溶解させ、20mlづつシャーレに分取し、シャーレに広げて冷却し、平板培地Bを作成する。



【0027】希釈した汚泥の被検試料を0.1ml取り、平板培地Aと平板培地Bのそれぞれの培地全体に拡散させ、恒温培養器内で30～32℃の温度で培養する。

【0028】本発明では、上記の平板培地Aを用いて、以下に説明する段階的認定を行う。第一段階の認定は、平板培地Aに早期にコロニーが形成されるか否かを視覚的に認定し、次いで早期に形成されたコロニーが存在する場合に、そのコロニーが有用細菌であるパチルス属細菌のコロニーであるか否かを視覚的に認定する。早期というのは、培養開始から48時間位までを意味する。この早期に、培地上にパチルス属細菌のコロニーが形成されていることが、まず第一に必要である。

【0029】これは肉眼及び形状顕微鏡で簡単に認定することができ、具体的には、培地上に形成されたコロニーを肉眼で観察し、表1に示すようなパチルス属細菌のコロニー特有の色調及び形状等を示すものであれば、パチルス属細菌のコロニーであると判定することができる。

【0030】

【表1】

	特徴	
色調	白色	
形状	円形	
周辺	鮮明	
隆起	初期 	中期 
光沢	艶なし	
表面	皺状	

【0031】本発明において、第一段階の認定の結果、早期にコロニーが形成されていない場合や、早期にコロニーを確認したが、そのコロニーはパチルス属細菌のコロニーであると判定できなかった場合には、汚泥の生物処理が非常に悪いと判断することができる。この対策と

しては珪酸塩、アルミニウム塩、カルシウム塩、マグネシウム塩等のミネラルを添加し、パチルス属細菌の培養、増殖を促進することや、反応工程での曝気量を変化させることが挙げられる。また、固液分離した汚泥を送送する量をコントロールすることも重要である。その

他、投入汚水量のコントロールも必要場合は行う。

【0032】次に、第一段階の認定の結果、コロニーがバチルス属細菌のコロニーである場合には、胞子を形成しているか否かという第二段階の認定を行う。これは、肉眼でも、コロニーの中心部から胞子を形成していることが確認できるが、詳しくは顕微鏡観察によって確認する。

【0033】この平板培地Aでの胞子形成速度と、そのバチルス属細菌の特性である栄養源の分解速度との間には比例関係が存在することが本発明者の研究により明らかとなった。よって、本発明は、早期（培養から48時間位まで）に、バチルス属細菌が胞子を形成していることから、そのバチルス属細菌が栄養源分解能力の高い種であるという判断ができるのである。これは従来のように、平板培地に培養したコロニーから細菌を単離し、各々について栄養分試験を行う手間をばふき、非常に簡単にしかも迅速に生物処理の有用細菌であるバチルス属細菌の栄養分解能の優劣を判断することができる。栄養分解能が比較的高いバチルス属細菌では、そのコロニー自体は、わずか24時間でも確認することができるが、胞子形成が確認されるのは、ほぼ48時間培養後となる。

【0034】従って、栄養分解能の高いバチルス属細菌であれば、サンプリングから48時間程度で、生物処理の診断結果がわかるので、処理場等の日常の施設管理に十分利用することができる。

【0035】また、バチルス属細菌の栄養分解能力は、培養した培地Aのコロニー周辺の培地の溶解状況を観察することによっても確認することができる。栄養分解能の高い種は、コロニー周辺の培地を溶解し、コロニーの中心が下方に沈んだようになるという特徴があるので、上述の胞子形成の確認と合わせて、更に詳しくバチルス属細菌の栄養分解能を知ることができる。

【0036】第二段階の認定の結果、早期（培養から48時間位まで）に、胞子の形成が確認されなかった場合には、バチルス属細菌は存在するが、栄養分解能の低い種であるので、汚泥の生物処理は、良好に進まない可能性がある。よって、栄養分解能の優れた種が優占化するように、適切な処置を行う必要がある。適切な処置とは、前述の対策と同様である。更に、分解能の良いバチルス属細菌汚泥をシーディング（種付）することが好ましい。なお、早期（培養から48時間位まで）に、胞子の形成が確認されなかった場合には、継続して培養を続け、胞子の形成が確認された時点を記録し、次の第三段階の認定に進む。

【0037】次いでバチルス属細菌のコロニー数をカウントし、菌体密度を計測する。密度の測定は、平板培養法による生菌数の測定方法に従って、コロニー数を数えることによって行う。この計測によって、第一及び第二段階の認定で栄養分解能が高いと判定されたバチルス

属細菌の量（密度）が簡易に測定できる。

【0038】具体的には、コロニー数をカウントした被検試料の希釈倍率 x とカウント数 y によって計測することができる。下水やし尿処理の場合には、 x と y が（式） $y \times 1.0^{10} \geq 1.0^6$ を満たすか否かによって有用なバチルス属細菌の菌体密度が適切か、または適切でないかが判断できる。これが第三段階の認定である。コロニー数をカウントする際には、培地上にコロニーが5～100個、好ましくは10～30個存在している培地を適当にカウントすることが好ましい。100個を越えるコロニーが平板培地上に存在していると、カウント誤差が出やすく、またコロニー数が5個未満であると、希釈による誤差が出る。

【0039】第三段階の認定の結果、コロニー数をカウントした被検試料の希釈倍率 x とカウント数 y が上式を満たさない場合には、汚水の生物処理におけるバチルス属細菌の密度が適切ではないと判断することができる。よって密度を増加させるために適切な処置を行う必要がある。適切な処置とは、前述の対策と同様である。

【0040】次に、平板培地Aでの培養と平行して行われる平板培地Bでは、バチルス属細菌の中でも、でんぷん分解能を有する細菌の出現率がわかる。その方法は、まず希釈した被検試料を植菌し、培養後にコロニーを出現させる。この培地上にはバチルス属細菌のコロニーや他の細菌のコロニーも混在している。バチルス属細菌のコロニーであるか否かは、前述した肉眼観察と同様の手法により確認できる。このバチルス属細菌のコロニー数をカウントし、全コロニー数①とする。次に、この培地及びコロニー上にルゴール液（ヨードカリウム2g、ヨード1g、蒸留水80ml）を噴霧し、青紫色に変色したコロニー数②をカウントし、変色コロニー数とする。全コロニー数から変色コロニー数を引いた数がでんぷん分解菌のコロニー数である。よって、でんぷん分解能を有する細菌の出現率（％）は、 $(①-②) \div ① \times 100$ から求めることができる。

【0041】本発明では、上述の平板培地Aでの認定に加えて、平板培地Bによる培養を平行に行うことによって、バチルス属細菌の栄養分解能の中でも、特に炭水化物（でんぷん）分解能を有する菌の出現率を知ることができるが、生物処理の状況をより詳しく、しかも簡易に把握することができる。

【0042】でんぷん分解能を有する菌の出現率が10％以上であると生物処理の状況が非常に良好であると判断できる。

【0043】平板培地Bによる培養の結果、でんぷん分解能を有する菌が認められない場合には、種汚泥としてでんぷん分解能を有するバチルス属細菌を有する脱水土汚泥、乾燥汚泥、発酵汚泥等を処理槽にシーディング（種付）し、それらを増殖させる手段を構想することが好ましい。

【0044】本発明の生物処理の簡易診断方法は、1回の検査で、生物処理の状況を絶対的に判断することができ、例えば、長野県の処理場と、奈良県の処理場との比較を行うことができる。また、この診断は、1回限りの診断ではなく、継続して検査することも重要である。継続して検査を行うことによって、今回の状況（データ）を前回の状況（データ）と比較することができる。前回のデータと比較することによって、一時的な状況の判断のみならず、生物処理の状況にある程度予測することができ、改善が必要な場合には、適切な処置を行うことができる利点がある。

【0045】本発明では、簡易にバチルス属細菌の状態を肉眼、顕微鏡観察により、確認することによって、簡易に生物処理の状況を把握することができ、日常の施設管理において、適切な処置をとることができる。また、学識・専門知識、検査技術のない者でも、短期のトレーニングによって簡単に本発明の操作を行うことができる。本発明の診断方法は、汚泥を単離培養することなく、希釈しただけの汚泥を用いて簡単にバチルス属細菌の栄養分解能力の優劣等を判断することができるので、診断にかかる日数および手間が削減され、迅速にまた簡易に汚水の生物処理の状況の良否が判断できるが、さらに詳しく、本発明の培地から細菌を単離して、各菌の栄養毎の分解能力や生物学的検査を行ってもよい。

【0046】

【実施例】本発明の実施例について説明する。かかる実施例によって本発明が限定されるものではない。

【0047】実施例1

下水処理施設の曝気槽出口の流出部から採取した被検試料20mlをホモジナイザーを用いレベル3で30秒間混合破砕し、試験用原水とする。試験用原水から1mlを分取し、希釈水を加えて10mlとして10倍希釈水を調製する。更に、10倍希釈水を良く混合し、この10倍希釈水から1mlを分取し、希釈水を加えて10mlとして10²倍希釈水を調製する。これを順次繰り返し、10³倍希釈水まで用意する。

【0048】これを下記のように調製した平板培地A及び平板培地Bに、希釈倍率の高いものから低いものへ順に、それぞれ希釈サンプル0.1mlずつ培地上に入れる。希釈サンプルが培地全面に拡散するように、コーナージ棒等を用いて広げる。恒温培養器内で30〜32℃の温度で培養する。

【0049】平板培地A組成

ニュートリエントブロス(Difco社製 CM-1) 8g
ぶどう糖 8g

*食塩

上記に蒸留水を加え1リットルにする。寒天を15g加えて加熱（80℃）し、寒天を完全に溶解させ、20mlずつシャーレに分取し、シャーレに広げて冷却し、平板培地Aを作成する。

【0050】平板培地B組成

ニュートリエントブロス(Difco社製 CM-1) 8g
ぶどう糖 8g
食塩 6g
でんぷん 5g
酵母エキス 0.5g

上記に蒸留水を加え1リットルにする。寒天を15g加えて加熱（80℃）し、寒天を完全に溶解させ、20mlずつシャーレに分取し、シャーレに広げて冷却し、平板培地Bを作成する。

【0051】平板培地A上に、培養48時間後に発生したコロニーは、肉眼で観察すると、色調は白色であり、形状は円形であり、周辺は鮮明、隆起の様子は中央が盛り上がり、光沢は艶なしで、表面は皺状であったので、バチルス属細菌のコロニーが存在することがわかった。

【0052】バチルス属細菌以外の雑菌はノカルジア型細菌、酵母が若干認められた。

【0053】バチルス属細菌のコロニーは、希釈倍率10⁴のシャーレにおいて、15個であった。このバチルス属細菌のコロニーを白金耳で採菌し、顕微鏡で観察すると、胞子化しているもの2種、内生胞子形成しているもの5種、桿菌状のもの2種が認められた。

【0054】また、平板培地B上に、培養24時間後に発生したコロニーのうち、バチルス属細菌であるという簡易認定を肉眼で行い、その後、培地全体にルゴール液（ヨードカリウム2g、ヨード1g、蒸留水80ml）を塗布する。

【0055】その結果、バチルス属細菌であるという認定をしたコロニー15個の内、12個が青紫色に変色し、3個が変色しなかった。従って、でんぷん分解能力を有する菌の出現率は、20%であった。実施例1の結果から判断すると、この下水処理施設における生物処理の状況は良好かつ安定であると診断できる。

【0056】

【発明の効果】以上の如く、本発明によれば、生物処理の指標細菌となるバチルス属細菌を簡易にかつ迅速に判断し、かつその栄養分解能力等の判断も容易に行うことができ、処理場等における日常の施設管理に利用できる汚水の生物処理の簡易診断方法を提供することができる。